

Abschlussbericht

Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung von Maissaatgut auf GVO-Verunreinigungen im Frühjahr 2013

Impressum

Herausgeber: Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft
Naumburger Str. 98, 07743 Jena
Tel.: 03641 683-0, Fax: 03641 683-390
Mail: pressestelle@tll.thueringen.de

Autoren: **Dr. Sabine Domey,**
Dipl.-Ing. Rüdiger Mehnert

April 2013

Copyright:

Diese Veröffentlichung ist urheberrechtlich geschützt. Alle Rechte, auch die des Nachdrucks von Auszügen und der foto-mechanischen Wiedergabe sind dem Herausgeber vorbehalten.

1 Aufgabenstellung

Auf Grundlage des gemeinsamen Erlasses des Thüringer Ministeriums für Soziales, Familie und Gesundheit (TMSFG) und des Thüringer Ministeriums für Landwirtschaft, Forsten, Umwelt und Naturschutz (TMLFUN) vom 28. Januar 2003, zuletzt geändert am 20.11.2011, sollten im Auftrag des Thüringer Landesverwaltungsamtes etwa 35 Proben Importmaissaatgut vor der Aussaat vom gendiagnostischen Untersuchungslabor der Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft (TLL) auf Verunreinigungen mit gentechnisch-veränderten Organismen (GVO) untersucht werden.

2 Material und Methoden

Die molekularbiologische Diagnostik basierte auf der Subsamplingmethode der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 28b GenTG zum "Nachweis von gentechnischen Veränderungen in Saatgut" (2012).

2.1 Anzahl und Menge der Proben

Die Probenahme erfolgte durch Mitarbeiter des Außendienstes der TLL unter Anleitung des Referates Saatgut nach den dafür geltenden Vorschriften. Beprobt wurden Saatguthändler und landwirtschaftliche Betriebe laut Empfehlung der Bund/Länderarbeitsgemeinschaft Gentechnik (LAG) unter besonderer Berücksichtigung von zertifiziertem Importsaatgut (Drittstaaten und EU-Mitgliedstaaten). Es wurden insgesamt 35 Proben geprüft. Für jede Probe existiert eine amtlich verschlossene Rückstellprobe, die im Referat Saatgut hinterlegt ist. Detaillierte Angaben zu: Probennummer, Sorte, Anerkennungsnummer und Erzeugerland sind in der Tabelle zusammengestellt.

Alle Proben gelangten trocken, amtlich verschlossen und gut beschriftet in das Gendiagnostiklabor der TLL.

Da für Saatgut noch kein Schwellenwert für GVO-Verunreinigungen festgelegt wurde, besteht Nulltoleranz. Für die sichere Detektion eines GVO-Samens ist nach statistischer Berechnung eine Probenmenge von rund 3 000 Samen (mindestens 2 995 Samen) erforderlich, um die Hypothese, dass kein GVO-Samenkorn vorhanden ist, mit 95 %iger Sicherheit zu widerlegen. Das entspricht bei Mais unter Zugrundelegung des durchschnittlichen Tausendkorngewichtes ca. 1 bis 1,5 kg. Unter Berücksichtigung einer technisch realisierbaren Erfassungsgrenze von 0,1 % wurden die Proben in drei Teilproben von jeweils 1 000 Samen unterteilt (Subsampling).

Tabelle: Maissaatgutproben zur Untersuchung auf GVO-Verunreinigungen
(Mitteilung MEHNERT, 2013)

Lfd.-Nr.	Proben-Nr. SVK DTH	Sorte	Anerkennungsnummer	Erzeugerland
1	14/36/12	Amagro	F0298Z320300	Frankreich
2	14/37/12	Amaretto	F0491Z225014	Frankreich
3	14/38/12	Herkuli	F0164Z2P9308	Frankreich
4	14/39/12	DKC 3398	F0076Z7292MEA	Frankreich
5	14/40/12	SY Santacruz	F0164Z939725	Frankreich
6	04/39/12	SY Unitop	F0424Z921472 S	Frankreich
7	04/40/12	Futurixx	F0111Z986470	Frankreich
8	04/41/12	Indexx	F0111ZA2528A	Frankreich

Lfd.-Nr.	Proben-Nr. SVK DTH	Sorte	Anerkennungsnummer	Erzeugerland
9	04/42/12	Codimi	F0252KON1550	Frankreich
10	04/43/12	NK Perform	F0298Z933334 DGP	Frankreich
11	04/44/12	SY Cooky	F0298Z945296 DMP	Frankreich
12	26/33/12	Ambrosini	F0841Z535785 S	Frankreich
13	06/36/12	DKC 3313	F0076Z7241MEC	Frankreich
14	06/37/12	ES Fortran	F0440k0970550C	Frankreich
15	07/35/12	LG 32.16	F0964Z01257TNZ	Frankreich
16	07/36/12	Perform	H-2-099/1006	Ungarn
18	07/38/12	SY Kairo	F0298 Z 863921 DGP	Frankreich
17	07/37/12	Laurinio	F0111Z986827	Frankreich
19	07/39/12	Ajaxx	F0111 Z 985883	Frankreich
20	06/39/12	Ambrosini	2-0010-00624-61	Ungarn
21	06/40/12	Podium	F0841Z 536839B	Frankreich
22	06/41/12	Nitro	F0964 Z 009177SM	Frankreich
23	06/42/12	Colisee	F0841 Z 535936S	Frankreich
24	11/35/12	SY Respect	F0389 Z 949210	Frankreich
25	11/36/12	SY Unitop	F0298 Z 938632 DGR	Frankreich
26	11/37/12	Colisee	F0298 Z 220212	Chile
27	14/43/12	LG 30.211	F0964 Z 01554ONZ	Frankreich
28	14/44/12	Colisee	F0841 Z 535932	Frankreich
29	14/45/12	LG.30.222	F0964 Z 014300NZ	Frankreich
30	14/46/12	Troizi CS	F0252 Z 1N1324	Frankreich
31	14/47/12	Tokala	F0964 Z 008713 SM	Frankreich
32	15/126/12	Ricardinio	F0298 Z521017	Frankreich
33	15/127/12	Colisee	F0298 Z 220213	Chile
34	15/128/12	P9027	A2P821000	Österreich
35	15/129/12	Alduna	F0964 Z 00756 TRO	Frankreich
36	15/130/12	Ayrro	F0964 Z 009723SM	Frankreich
37	11/39/12	Ricardinio	F0491 Z 225191	Frankreich

Proben Nr. 17 und 33 wurden bereits in Bayern untersucht (negativer Befund)

2.2 Probenaufbereitung

Die Maisproben wurden in jeweils drei Teilproben mit je 1 000 Samen mittels Körnerzählgerät unterteilt und jede Teilprobe getrennt vermahlen, homogenisiert und analysiert.

Zum Mahlen der Samen diente die Küchenmaschine TM 21 der Firma Vorwerk. Die Vermahlung erfolgte so, dass der Hauptanteil der Korngrößen zwischen 0,2 mm bis 0,6 mm ca. 65 % \pm 1 % betrug und der Anteil größerer Teilchen zwischen 0,6 mm und 2 mm nicht größer als 11 % war.

2.3 DNA-Extraktion

Zur DNA-Extraktion wurden jeweils 3 g Maismehl jeder Teilprobe eingesetzt und mit 10 ml PL1-Lysepuffer aus dem NucleoSpin® Plant-Kit von Macherey/Nagel versetzt. Nach 30 minütiger Inkubation bei 60 °C im Schüttelwasserbad und anschließender Zentrifugation (10 min bei Maximum) wurde ein Aliquot von 400 μ l des Überstandes entsprechend des Kit-Protokolls weiterbehandelt. Als negative Vergleichskontrolle diente nicht gentechnisch veränderter konventioneller Mais, als Positivkontrollen für das GVO-Screening GTS40-3-2 Soja 0,1 % und DAS-40278-9 10 % für den Nachweis des entsprechenden GVO-Events. Zur Kontrolle der Reinheit der Extraktion sind jeweils zwei Kontrollen ohne Probenmaterial angelegt worden.

Die durchschnittliche DNA-Ausbeute wurde mit dem NanoDrop ermittelt. Proben mit DNA-Gehalten deutlich über 40 ng/µl wurden auf etwa diesen Gehalt verdünnt, um mögliche Inhibitionen während der PCR zu verhindern.

2.4 Untersuchung der gentechnischen Veränderung mittels Real-time Polymerasekettenreaktion (PCR)

Der Nachweis einer gentechnischen Veränderung erfolgte anhand eines Screenings nach dem 35S-Promotor (p35S-CaMV) und dem NOS-Terminator (3'-nos) mittels Real-Time PCR im Duplexansatz (Amtliche Methode nach § 64 LFGB, 2008). Es gelangte der TaqMan Universal Mastermix der Firma Applied Biosystems zum Einsatz. Anhand dieses Screenings können außer Ly038 und DAS-40278-9 alle der gegenwärtig weltweit bekannten GVO-Mais-Linien erfasst werden.

Die Kontrolle der Amplifizierbarkeit der extrahierten DNA basierte auf der Vervielfältigung einer konservierten Chloroplasten-Leu-tRNA-Sequenz mittels konventioneller PCR und anschließender gelelektrophoretischer Auftrennung des replizierten DNA-Amplifikats. Zur Abschätzung der Größe der durch die PCR gebildeten DNA-Fragmente lief ein 100 bp DNA-Standard mit Bruchstücken definierter Basenzahl mit.

Zum Ausschluss einer möglichen Kontamination während des PCR-Ansatzes existierte jeweils eine Wasserkontrolle. Alle Probenextrakte und Kontrollen unterlagen einer PCR-Doppelanalyse.

Der PCR-Lauf war auswertbar, wenn die Negativkontrollen (unbehandelter Mais, Extraktions- und Wasserkontrolle) keine Bande/Signal zeigten und die Positivkontrollen zu einem deutlichen Signal/Bande der erwarteten Größenordnung führten.

3 Ergebnisse

Um Doppeluntersuchungen in den Ländern zu vermeiden und bei positiver Testung unverzüglich benachrichtigen und handeln zu können, wurden die Ergebnisse aus den einzelnen Probeneingängen unverzüglich an die Verantwortlichen mitgeteilt. Der Eintrag der Ergebnisse erfolgte in eine bundeseinheitliche Tabelle des Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) und ist für alle eingetragenen Nutzer einsehbar.

In keiner der Teilproben konnte eine gentechnische Veränderung nachgewiesen werden.

4 Zusammenfassung

Im Rahmen der amtlichen Kontrolle wurden im Frühjahr 2013 in der Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft 35 Maissaatgutproben unterschiedlicher Sorten aus dem Saatguthandel auf GVO-Verunreinigungen untersucht. Die gendiagnostische Kontrolle des Saatguts basierte auf dem Handlungsleitfaden der Bund/Länderarbeitsgemeinschaft Gentechnik (LAG) zur „Harmonisierten experimentellen Saatgutüberwachung auf GVO-Anteile“ sowie auf dem Vorschlag der LAG für ein bundeseinheitliches Vorgehen. In keiner Probe konnte eine gentechnische Veränderung nachgewiesen werden.